

创伤患者外周血细胞免疫功能动态变化及其与创伤预后的关系

王俊^{1,2,3} 文大林² 种慧敏⁴ 甘乐彬^{1,2,3} 杜娟² 张华才² 都定元⁵

曾灵² 张可珺⁴ 蒋建新² 张安强² 邓进^{1,2,3}

¹ 贵州医科大学附属医院急诊科, 贵阳 550004; ² 解放军陆军特色医学中心创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400042; ³ 贵州医科大学, 贵阳 550004; ⁴ 解放军陆军特色医学中心检验科, 重庆 400042; ⁵ 重庆市急救医疗中心创伤科, 重庆 400042

通信作者: 邓进, Email: gydengjin@yeah.net

【摘要】目的 研究严重创伤患者细胞免疫功能动态变化规律及其在创伤预后评估中的作用。方法 采用前瞻性队列研究设计, 连续纳入重庆市急救医疗中心 2019 年 11 月至 2020 年 1 月收治的创伤患者为研究对象。采集患者伤后 1、3、5、7、14 d 外周血, 分离白细胞, 采用流式细胞分析技术检测中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞表面 CD64、CD274、CD279 表达及 CD3⁺ 总 T 淋巴细胞、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群。根据损伤严重度评分 (ISS) 和伤后 28 d 内是否发生脓毒症分组, 分析患者细胞免疫指标的动态变化及与创伤严重程度、感染并发症的关系; 进一步采用 Pearson 检验分析细胞免疫指标与急性生理学与慢性健康状况评分 II (APACHE II)、序贯器官衰竭评分 (SOFA)、ISS 评分的相关性。**结果** 共纳入 42 例创伤患者, 其中 ISS > 25 分的严重伤患者 8 例, 16 分 < ISS ≤ 25 分的重伤患者及 ISS ≤ 16 分的轻伤患者各 17 例; 伤后 28 d 内发生脓毒症 6 例, 脓毒症发病率为 14.3%。在创伤发生后不同时间点比较各细胞免疫指标动态变化显示, CD64 指数和 CD4⁺ T 淋巴细胞亚群比例随时间延长逐渐增加 ($H=15.464$ 、 $P=0.004$, $F=2.491$ 、 $P=0.035$)。伤后 1 d 和 3 d, 损伤越重的患者, 其 CD64 指数及中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞 CD279 阳性率越高。伤后 1 d 轻伤、重伤、严重伤患者的 CD64 指数分别为 2.81 ± 1.79 、 1.77 ± 0.92 、 3.49 ± 1.09 , 中性粒细胞 CD279 阳性率分别为 1.40% (0.32%, 2.04%)、0.95% (0.44%, 2.70%)、12.73% (3.00%, 25.20%), 淋巴细胞 CD279 阳性率分别为 3.77% (3.04%, 5.15%)、4.71% (4.08%, 6.32%)、8.01% (4.59%, 11.59%), 单核细胞 CD279 阳性率分别为 0.57% (0.24%, 1.09%)、0.85% (0.22%, 1.25%)、6.74% (2.61%, 18.94%), 其中严重伤患者 CD64 指数显著高于重伤患者, 中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞的 CD279 阳性率显著高于轻伤和重伤患者 (均 $P < 0.05$)。伤后 3 d, 严重伤患者 CD64 指数和淋巴细胞 CD279 阳性率均显著高于重伤患者 [4.58 ± 2.41 比 2.43 ± 1.68 , 7.35% (5.90%, 12.28%) 比 4.63% (3.26%, 6.06%), 均 $P < 0.05$]。发生脓毒症的患者伤后 1 d CD64 指数和单核细胞 CD279 阳性率显著高于未发生脓毒症的患者 [4.06 ± 1.72 比 2.36 ± 1.31 , 3.29% (1.14%, 12.84%) 比 0.67% (0.25%, 1.48%), 均 $P < 0.05$]。伤后 3 d 淋巴细胞 CD279 阳性率显著高于未发生脓毒症的患者 [8.73% (7.52%, 15.82%) 比 4.67% (3.82%, 6.21%), $P < 0.05$]。此外, 相关性分析显示, 伤后 1 d, 淋巴细胞 CD279 阳性率与 SOFA 和 ISS 评分呈正相关 (r 值分别为 0.533、0.394, 均 $P < 0.05$); 单核细胞 CD279 阳性率与 APACHE II、SOFA 和 ISS 评分呈正相关 (r 值分别为 0.579、0.452、0.490, 均 $P < 0.01$); 中性粒细胞 CD279 阳性率与 APACHE II 和 ISS 评分呈正相关 (r 值分别为 0.358、0.388, 均 $P < 0.05$)。**结论** CD64 指数和中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞的 CD279 表达水平与创伤患者损伤严重程度及预后相关, 监测细胞免疫功能可能对创伤预后评估具有重要意义。

【关键词】 创伤; 脓毒症; 细胞免疫; CD64; CD279

基金项目: 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室开放课题 (SKLKF201802); 陆军军医大学临床医学科研课题 (2019XLC3048); 国家自然科学基金 (81660317); 贵州省科技计划项目 (2015-3041, 2017-5654)

临床试验注册: 中国临床试验注册中心, NCT 01713205

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200902-00604

Dynamic changes of cellular immune function in trauma patients and its relationship with prognosis

Wang Jun^{1,2,3}, Wen Dalin², Zhong Huimin⁴, Gan Lebin^{1,2,3}, Du Juan², Zhang Huacai², Du Dingyuan⁵, Zeng Ling², Zhang Kejun⁴, Jiang Jianxin², Zhang Anqiang², Deng Jin^{1,2,3}

¹Department of Emergency Surgery, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; ²State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China; ³Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; ⁴Department of Clinical Laboratory, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China; ⁵Department of Traumatology, Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400042, China

Corresponding author: Deng Jin, Email: gydengjin@yeah.net

【Abstract】 Objective To study the dynamic changes of cellular immune function in peripheral blood of trauma patients and its role in the evaluation of traumatic complications. **Methods** A prospective cohort study design was conducted. Patients with blunt trauma admitted to Chongqing Emergency Medical Center from November 2019 to January 2020 were consecutively enrolled. The peripheral blood samples were collected at 1, 3, 5, 7, and 14 days after injury. The expressions of CD64, CD274, and CD279 on the surface of neutrophils, lymphocytes, and monocytes as well as CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocyte subsets were measured by flow cytometry. The trauma patients were divided into different groups according to the injury severity score (ISS) and sepsis within 28 days after injury, respectively. The dynamic changes of cellular immune function in different time points after injury and differences between different groups were compared. Furthermore, the correlation with acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II), sequential organ failure assessment (SOFA), and ISS were evaluated by Pearson correlation analysis. **Results** A total of 42 patients with trauma were finally enrolled, containing 8 severe trauma patients with ISS greater than 25 scores, 17 patients with ISS between 16 and 25 scores, and 17 patients with ISS less than 16 scores. The sepsis morbidity rates were 14.3% ($n = 6$) within 28 days after injury. CD64 index and CD4⁺T lymphocyte subsets were significantly increased at different time points after trauma ($H = 15.464, P = 0.004; F = 2.491, P = 0.035$). The CD64 index and positive rates of CD279 in neutrophils, lymphocytes, and monocytes were increased with the severity of injury at day 1 and day 3 after injury, respectively. At the first day after injury, CD64 index were $2.81 \pm 1.79, 1.77 \pm 0.92, 3.49 \pm 1.09$; positive rate of CD279 in neutrophils were 1.40% (0.32%, 2.04%), 0.95% (0.44%, 2.70%), 12.73% (3.00%, 25.20%); positive rate of CD279 in lymphocytes were 3.77% (3.04%, 5.15%), 4.71% (4.08%, 6.32%), 8.01% (4.59%, 11.59%); positive rate of CD279 in monocytes were 0.57% (0.24%, 1.09%), 0.85% (0.22%, 1.25%), 6.74% (2.61%, 18.94%) from mild to severe injury groups, respectively. The CD64 index in severe injury group was significantly higher than that in moderate group, and the positive rates of CD279 in neutrophils, lymphocytes and monocytes of severe injury patients were higher than those in other two groups (all $P < 0.05$). At 3rd day after injury, compared to moderate group, severe injury patients had significantly higher CD64 index and positive rate of CD279 in lymphocytes [4.58 ± 2.41 vs. $2.43 \pm 1.68, 7.35\%$ (5.90%, 12.28%) vs. 4.63% (3.26%, 6.06%), both $P < 0.05$]. Compared with the non-sepsis patients, the sepsis patients had significantly higher CD64 index and positive rate of CD279 in monocytes at day 1 after injury [4.06 ± 1.72 vs. $2.36 \pm 1.31, 3.29\%$ (1.14%, 12.84%) vs. 0.67% (0.25%, 1.48%), both $P < 0.05$], and positive rate of CD279 in lymphocytes significantly higher at 3rd day after injury [8.73% (7.52%, 15.82%) vs. 4.67% (3.82%, 6.21%), $P < 0.05$]. In addition, correlation analysis showed that positive rate of CD279 in lymphocytes was positively correlated with SOFA and ISS, respectively (r values were 0.533 and 0.394, both $P < 0.05$), positive rate of CD279 in monocytes was positively correlated with APACHE II, SOFA and ISS scores, respectively (r values were 0.579, 0.452 and 0.490, all $P < 0.01$), positive rate of CD279 in neutrophils was positively correlated with APACHE II and ISS, respectively (r values were 0.358 and 0.388, both $P < 0.05$). **Conclusions** CD64 index and CD279 expression in neutrophils, lymphocytes, and monocytes are significantly related to the severity and prognosis of trauma. Dynamic monitoring the cellular immune function may be helpful for assessing the prognosis of trauma patients.

【Key words】 Trauma; Sepsis; Cellular immune function; CD64; CD279

Fund program: Open Project Program of the State Key Laboratory of Trauma, Burn and Combined Injury (SKLKF201802); Research Project of Clinical Medical, Army Medical University (2019XLC3048); National Natural Science Foundation of China (81660317); Science and Technology Projects of Guizhou Province of China (2015-3041, 2017-5654)

Trial Registration: Chinese Clinical Trial Registry, NCT 01713205

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200902-00604

随着创伤急救手段和生命支持水平的提高,严重创伤早期救治成功率已显著提升,但创伤后期并发感染,尤其是脓毒症的发病率和病死率仍居高不下^[1]。感染的发生与机体的免疫状态密切相关,目前已有证据表明严重创伤后机体的免疫功能会出现严重紊乱^[2],但严重创伤对机体细胞免疫的影响程度仍有争议。本研究通过动态检测严重创伤患者外周血免疫细胞 CD64、CD274、CD279 及 T 淋巴细胞亚群变化,探讨创伤患者细胞免疫功能变化的规律以及与创伤严重程度、感染并发症的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象: 本研究采用前瞻性队列研究设计,选择 2019 年 11 月至 2020 年 1 月重庆市急救医疗

中心连续收治的 42 例创伤患者作为研究对象。

1.1.1 纳入标准: ① 年龄 18 ~ 65 岁; ② 严重创伤患者,简明损伤定级标准 (abbreviated injury scale, AIS)^[3] ≥ 3 分; ③ 受伤至入院时间 ≤ 24 h; ④ 经患者或其法定代理人同意,并签署知情同意书。

1.1.2 排除标准: ① 既往有自身免疫性疾病、免疫缺陷疾病、超敏反应性疾病、恶性肿瘤等病史者; ② 创伤前长期服用免疫抑制药物或抗凝药物者; ③ 入院前大量输液 (> 2000 mL) 者; ④ 处于特殊时期的患者,如怀孕或哺乳期妇女; ⑤ 伤后 72 h 内死亡者。

1.2 伦理学: 本研究符合医学伦理学标准,已通过解放军陆军特色医学中心医学伦理委员会批准

(审批号:2019-137),由重庆市急救医疗中心采集样本,由贵州医科大学和解放军陆军特色医学中心的研究人员完成指标检测、数据收集和分析。

1.3 研究方法:记录患者的性别、年龄、致伤原因、伤情;于伤后28 d内动态检测生理生化指标,进行细菌培养等。根据损伤严重程度评分(injury severity scale, ISS)将患者分为严重伤(ISS>25分)、重伤(16分<ISS≤25分)及轻伤(ISS≤16分),分析不同损伤程度患者各指标的变化情况;根据美国重症医学学会/欧洲危重病医学会发布的脓毒症3.0定义^[4],分析伤后28 d内是否发生脓毒症并发症两组患者各指标的变化情况。

1.3.1 样本采集:对符合入选标准的创伤患者,以连续采血的方式,分别于伤后1、3、5、7、14 d用乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)抗凝真空管采集外周全血2 mL,ISS≤16分者仅采集创伤后1 d血液样本,混匀后室温放置待用。

1.3.2 细胞免疫指标检测:各细胞免疫指标采用直接荧光免疫法进行检测,具体为选择不同荧光直接标记的抗体(美国BD公司)与对应指标分子特异性结合,通过Navios多通道流式细胞分析仪(美国Beckman Coulter公司)检测患者外周血细胞CD45、CD3、CD4、CD8、CD274、CD279、CD64表达水平,所有血液样本在采集后2 h内完成检测。分析CD3⁺总T淋巴细胞、CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞亚群比例及CD4⁺/CD8⁺比值,淋巴细胞、中性粒细胞、单核细胞CD274、CD279表达水平,CD64指数(CD64指数为中性粒细胞CD64平均荧光强度与淋巴细胞CD64平均荧光强度的比值)在创伤患者中的变化规律及

与发生创伤脓毒症的相关性。

1.4 统计学分析:使用SPSS 22.0软件处理数据。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),事后比较采用Scheffe检验;不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数)[$M(Q_L, Q_U)$]表示,两组间比较采用Mann-Whitney U 检验,多组间比较采用Kruskal-Wallis检验,事后比较采用Bonferroni检验。计数资料采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。相关性分析采用Pearson检验。界定 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 创伤患者基本情况(表1):共纳入42例创伤患者,男女比例为4.25:1;年龄18~65岁,平均(43.10±12.47)岁;ISS评分(20.24±8.69)分,其中ISS>25分8例,16分<ISS≤25分17例,ISS≤16分17例;单部位损伤10例,2个部位损伤13例,3个及以上部位损伤19例;致伤原因:交通伤20例,坠落伤17例,重物砸伤3例,摔伤2例。6例患者发生脓毒症,脓毒症发病率为14.3%。脓毒症组与非脓毒症组间患者性别、年龄等差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),具有可比性。

2.2 创伤患者细胞免疫指标动态变化(表2):创伤患者CD64指数随伤后时间逐渐升高,伤后14 d较伤后1 d出现了显著的统计学差异($P = 0.002$);CD4⁺T淋巴细胞比例也呈逐渐升高趋势,伤后7 d和14 d均较伤后3 d出现了显著的统计学差异($P = 0.048$ 和 $P = 0.035$);其余指标在伤后无明显变化。

2.3 不同损伤程度创伤患者细胞免疫指标动态变

表1 伤后28 d内是否发生脓毒症两组创伤患者临床资料比较

组别	例数 (例)	性别(例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	致伤原因(例)				损伤部位(例)		
		男性	女性		交通伤	坠落伤	重物砸伤	摔伤	1个	2个	≥3个
全体	42	34	8	43.10±12.47	20	17	3	2	10	13	19
脓毒症组	6	4	2	36.67±15.51	3	3	0	0	2	2	2
非脓毒症组	36	30	6	44.17±11.81	17	14	3	2	8	11	17
χ^2/t 值		0.161		1.379		0.728			0.492		
P 值		0.688		0.176		1.000			0.782		

组别	例数 (例)	感染来源(例)				ISS评分 (分, $\bar{x} \pm s$)	ISS评分(例)			APACHE II评分 (分, $\bar{x} \pm s$)	SOFA评分 (分, $\bar{x} \pm s$)
		肺部	泌尿系	腹腔	伤口		>25分	16分< ISS≤25分	≤16分		
全体	42	3	1	1	1	20.24±8.69	8	17	17	5.29±4.77	1.38±1.13
脓毒症组	6	3	1	1	1	28.67±14.56	4	0	2	12.67±7.63	2.67±1.37
非脓毒症组	36	0	0	0	0	18.83±6.64	4	17	15	4.06±2.73	1.17±0.94
χ^2/t 值						1.627	9.140			2.734	3.389
P 值						0.161	0.004			0.039	0.002

注:ISS为损伤严重程度评分,APACHE II为急性生理学与慢性健康状况评分II,SOFA为序贯器官衰竭评分;致伤原因、ISS评分组间比较采用Fisher确切概率法;空白代表未测

表 2 42 例创伤患者伤后各时间点细胞免疫指标变化结果

时间	例数 (例)	中性粒细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	淋巴细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	单核细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	中性粒细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	淋巴细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕
伤后 1 d	42	1.84(0.45, 4.37)	4.59(3.28, 6.35)	0.71(0.38, 2.48)	3.44(2.40, 5.70)	9.16(5.71, 15.28)
伤后 3 d	42	2.07(0.38, 6.83)	5.50(4.01, 6.86)	1.01(0.17, 4.74)	5.56(2.47, 15.03)	8.63(5.78, 11.45)
伤后 5 d	42	1.17(0.59, 7.44)	5.05(4.12, 7.56)	0.97(0.43, 3.14)	7.35(2.92, 9.98)	9.98(6.99, 17.15)
伤后 7 d	42	1.13(0.53, 5.08)	6.89(5.54, 7.85)	0.87(0.29, 1.84)	5.43(4.46, 9.33)	12.29(5.25, 20.00)
伤后 14 d	42	0.43(0.27, 3.68)	6.28(3.75, 7.49)	0.51(0.19, 0.94)	4.11(0.94, 6.72)	10.30(7.88, 13.54)
<i>H</i> 值		3.367	5.003	2.080	8.593	2.589
<i>P</i> 值		0.498	0.287	0.721	0.072	0.629

时间	例数 (例)	单核细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	CD64 指数 〔 <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	CD3 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD4 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD8 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 〔 <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕
伤后 1 d	42	10.34(4.09, 18.43)	2.05(1.25, 3.66)	67.58 ± 10.25	55.31 ± 11.91	35.45 ± 9.40	1.50(1.04, 2.27)
伤后 3 d	42	10.63(5.14, 14.81)	3.14(1.42, 4.07)	68.76 ± 14.31	53.64 ± 11.83	38.45 ± 9.09	1.28(1.07, 1.76)
伤后 5 d	42	15.25(7.33, 25.03)	3.31(0.95, 4.10)	68.95 ± 12.94	61.49 ± 8.92	33.20 ± 8.61	1.71(1.50, 2.20)
伤后 7 d	42	13.19(8.25, 23.23)	2.88(2.23, 5.95)	72.36 ± 9.62	61.67 ± 10.08 ^b	32.51 ± 8.91	1.75(1.42, 2.70)
伤后 14 d	42	27.49(9.48, 38.41)	6.30(4.77, 9.75) ^a	73.62 ± 7.70	64.99 ± 12.35 ^b	29.79 ± 11.09	2.14(1.57, 4.05)
<i>H/F</i> 值		5.260	15.464	0.719	2.491	1.507	7.911
<i>P</i> 值		0.262	0.004	0.581	0.035	0.207	0.095

注：与伤后 1 d 比较，^a*P* < 0.01；与伤后 3 d 比较，^b*P* < 0.05

表 3 不同损伤程度创伤患者伤后第 1 天细胞免疫指标比较

组别	例数 (例)	中性粒细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	淋巴细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	单核细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	中性粒细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	淋巴细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕
轻伤组	17	1.40(0.32, 2.04)	3.77(3.04, 5.15)	0.57(0.24, 1.09)	3.44(1.92, 5.70)	10.41(6.78, 17.28)
重伤组	17	0.95(0.44, 2.70)	4.71(4.08, 6.32)	0.85(0.22, 1.25)	2.79(2.40, 4.46)	6.43(5.35, 10.71)
严重伤组	8	12.73(3.00, 25.20) ^{ac}	8.01(4.59, 11.59) ^{bd}	6.74(2.61, 18.94) ^{bc}	6.27(2.40, 11.75)	9.42(6.03, 17.07)

组别	例数 (例)	单核细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	CD64 指数 ($\bar{x} \pm s$)	CD3 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD4 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD8 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 〔 <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕
轻伤组	17	16.08(4.78, 18.82)	2.81 ± 1.79	70.30 ± 7.21	55.04 ± 10.11	33.91 ± 6.05	1.48(1.27, 2.16)
重伤组	17	6.65(2.50, 15.92)	1.77 ± 0.92	67.28 ± 12.95	56.47 ± 11.30	35.85 ± 10.42	1.61(1.03, 2.67)
严重伤组	8	12.30(9.81, 27.07)	3.49 ± 1.09 ^d	62.45 ± 8.08	53.36 ± 16.92	37.89 ± 13.16	1.53(0.95, 2.29)

注：轻伤组损伤严重度评分(ISS) ≤ 16 分, 重伤组 16 分 < ISS ≤ 25 分, 严重伤组 ISS > 25 分；与轻伤组比较，^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01；与重伤组比较，^c*P* < 0.05, ^d*P* < 0.01

表 4 不同损伤程度创伤患者伤后第 3 天细胞免疫指标比较

组别	例数 (例)	中性粒细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	淋巴细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	单核细胞 CD279 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	中性粒细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	淋巴细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕
重伤组	17	3.07(0.28, 7.74)	4.63(3.26, 6.06)	1.01(0.14, 4.61)	5.44(2.50, 10.11)	8.13(4.50, 11.80)
严重伤组	8	1.38(0.40, 8.86)	7.35(5.90, 12.28) ^a	2.03(0.18, 12.27)	12.74(2.01, 16.87)	8.63(6.48, 11.15)

组别	例数 (例)	单核细胞 CD274 ⁺ 〔%, <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕	CD64 指数 ($\bar{x} \pm s$)	CD3 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD4 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD8 ⁺ T 淋巴细胞 (%, $\bar{x} \pm s$)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 〔 <i>M(Q_L, Q_U)</i> 〕
重伤组	17	10.32(3.58, 15.28)	2.43 ± 1.68	71.04 ± 13.12	56.42 ± 10.61	37.19 ± 8.77	1.39(1.15, 1.72)
严重伤组	8	13.25(8.83, 15.12)	4.58 ± 2.41 ^b	65.19 ± 16.38	49.26 ± 13.13	40.44 ± 9.93	1.12(0.79, 2.26)

注：重伤组 16 分 < 损伤严重度评分(ISS) ≤ 25 分, 严重伤组 ISS > 25 分；与重伤组比较，^a*P* < 0.01, ^b*P* < 0.05

化(表 3~4)：严重伤患者伤后各时间点 CD64 指数较重伤患者偏高, 在伤后 1 d 和 3 d 与重伤患者相比差异均具有统计学意义(*P* = 0.007 和 *P* = 0.039)。

在伤后 1 d, 严重伤患者中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞 CD279 阳性率均较轻伤和重伤患者显著增高(与轻伤患者相比 *P* 值分别为 0.011、0.001、0.009, 与重伤患者相比 *P* 值分别为 0.031、0.006、0.022), 且在伤后 3 d 严重伤患者淋巴细胞 CD279

阳性率仍较重伤患者明显增高(*P* = 0.007)；而在创伤后期(伤后 5~14 d), 不同损伤程度创伤患者间各免疫细胞 CD279 阳性率差异无统计学意义。此外, 各免疫细胞 CD274 阳性率在不同损伤程度创伤患者间差异也无统计学意义。同样, 不同损伤程度创伤患者伤后 14 d 内 CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T 淋巴细胞比例及 CD4⁺/CD8⁺ 比值差异也无统计学意义。

2.4 脓毒症与非脓毒症创伤患者细胞免疫指标动

态变化(表5):与非脓毒症组比较,脓毒症组伤后1 d CD64 指数和单核细胞 CD279 阳性率均显著增高($P=0.005$ 和 $P=0.025$),伤后3 d 淋巴细胞 CD279 阳性率显著增高($P=0.025$),其余各指标在两组间差异均无统计学意义。

2.5 伤后1 d 细胞免疫指标与 APACHE II、

SOFA、ISS 评分的相关性(表6):伤后1 d,中性粒细胞 CD279 阳性率与 APACHE II 和 ISS 评分呈正相关(均 $P<0.05$);淋巴细胞 CD279 阳性率与 SOFA 和 ISS 评分呈正相关(均 $P<0.05$);单核细胞 CD279 阳性率与 APACHE II、SOFA 和 ISS 评分呈正相关(均 $P<0.01$);其余各指标与 APACHE II、SOFA、ISS 评分均无相关性。

表5 是否发生脓毒症两组创伤患者伤后不同时间点 CD64 指数、各免疫细胞 CD279 表达动态变化

组别	时间	例数(例)	CD64 指数($\bar{x}\pm s$)	中性粒细胞 CD279 ⁺ [% , M(Q _L , Q _U)]	淋巴细胞 CD279 ⁺ [% , M(Q _L , Q _U)]	单核细胞 CD279 ⁺ [% , M(Q _L , Q _U)]
非脓毒症组	伤后1 d	36	2.36±1.31	1.50(0.44, 3.07)	4.43(3.27, 5.93)	0.67(0.25, 1.48)
	伤后3 d	36	3.14±2.40	1.88(0.37, 6.61)	4.67(3.82, 6.21)	0.66(0.19, 3.77)
	伤后5 d	36	2.52±1.82	1.97(0.76, 4.80)	5.04(4.25, 7.30)	1.18(0.49, 2.48)
	伤后7 d	36	3.83±2.93	1.21(0.78, 7.35)	6.78(6.17, 7.64)	0.98(0.42, 1.66)
	伤后14 d	36	6.82±2.75	0.52(0.33, 3.68)	4.77(3.75, 6.25)	0.63(0.50, 0.94)
脓毒症组	伤后1 d	6	4.06±1.72 ^a	6.10(1.58, 14.71)	7.95(3.58, 9.80)	3.29(1.14, 12.84) ^b
	伤后3 d	6	3.70±1.56	3.82(2.12, 13.90)	8.73(7.52, 15.82) ^b	6.79(3.46, 17.76)
	伤后5 d	6	3.78±0.95	0.61(0.56, 6.22)	6.10(4.74, 7.08)	0.91(0.52, 3.54)
	伤后7 d	6	4.32±1.07	1.05(0.69, 1.92)	7.00(5.63, 7.41)	0.49(0.36, 1.26)
	伤后14 d	6	7.32±3.13	0.39(0.35, 0.42)	7.11(7.05, 7.18)	0.30(0.26, 0.35)

注:与非脓毒症组同期比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$

表6 创伤患者伤后1 d 细胞免疫指标与 APACHE II、SOFA、ISS 评分的相关性

免疫指标	APACHE II 评分		SOFA 评分		ISS 评分	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
淋巴细胞 CD279 ⁺	0.310	0.070	0.533	0.001	0.394	0.019
单核细胞 CD279 ⁺	0.579	<0.001	0.452	0.006	0.490	0.003
中性粒细胞 CD279 ⁺	0.358	0.035	0.132	0.451	0.388	0.021
淋巴细胞 CD274 ⁺	-0.124	0.476	-0.089	0.611	-0.110	0.530
单核细胞 CD274 ⁺	0.133	0.445	0.233	0.178	0.113	0.517
中性粒细胞 CD274 ⁺	0.151	0.387	0.086	0.624	0.161	0.356
CD3 ⁺ T 淋巴细胞	-0.047	0.770	-0.037	0.815	-0.254	0.104
CD4 ⁺ T 淋巴细胞	0.217	0.179	0.046	0.780	0.161	0.321
CD8 ⁺ T 淋巴细胞	-0.156	0.324	-0.013	0.935	-0.055	0.727
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.166	0.305	0.004	0.978	0.157	0.333
CD64 指数	0.185	0.241	0.231	0.141	0.103	0.518

注:APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分 II,SOFA 为序贯器官衰竭评分,ISS 为损伤严重程度评分

3 讨论

随着我国经济的发展,创伤已经取代传统的传染性成为社会的主要医疗负担,创伤是中国中青年残疾和死亡的主要原因,创伤的主要类型为交通伤,研究表明我国与交通伤有关的死亡发生率明显高于发达国家^[5]。创伤早期死亡原因主要是颅脑损伤、失血性休克;晚期死亡原因主要是脓毒症,多器官功能衰竭,脓毒症是创伤患者院内死亡的主要原因之一^[6]。严重创伤患者继发感染、尤其脓毒症是临床救治中的一大难题,与患者预后密切相

关。感染的发生发展与机体炎症反应和免疫功能有关,是创伤患者死亡的主要原因之一。近年来,严重烧/创伤、休克、重症感染等危重病状态下的机体免疫功能越来越受到重视,越来越多的研究表明,在重症感染、重型颅脑损伤、重症胰腺炎等各种危重病状态下,机体免疫功能均有改变,特别是细胞免疫的抑制,表现为 CD4⁺T 淋巴细胞比例及 CD4⁺/CD8⁺ 比值降低^[7]。但在严重创伤患者中,机体免疫功能的变化及其对疾病发展的影响仍存在争议。

机体免疫功能异常与脓毒症的发生发展过程密切相关,创伤会引起早期持续的炎症免疫反应,其中异常的中性粒细胞活化是关键因素^[8]。CD64 作为 IgG 的 Fc 受体之一,广泛表达在单核细胞、巨噬细胞及树突细胞等抗原呈递细胞表面,起到连接体液免疫和细胞免疫的“桥梁”作用^[9]。在正常情况下,中性粒细胞 CD64 表达水平极低;当机体受到外源病原菌感染时,中性粒细胞表面 CD64 大量表达,从而激活中性粒细胞的功能。国内外就中性粒细胞 CD64 在感染性疾病中应用的研究逐渐增多,并已证实其可作为脓毒症的早期诊断标志物,CD64 对于细菌感染的诊断价值优于传统的炎症指标,如降钙素原和 C-反应蛋白等,且特异性较高^[10-12]。在对不同年龄段人群的研究中发现,CD64 对新生儿、儿童、成人脓症患者均有较好的诊断效能,优于常规的白细胞计数、降钙素原、C-反应蛋白等指标^[13-15]。本研究显示,发生脓毒症的创伤患者中性粒细胞 CD64 指数高于未发生脓毒症者,且在创伤早期升高更为显著,表明 CD64 指数也可能成为创伤脓毒症发生的早期预警指标;同时我们也发现,CD64 指数与损伤严重程度密切相关,损伤越重,CD64 指数越高。综上所述,创伤患者外周血 CD64 指数可有效

反映其损伤严重程度及预后,尤其是在创伤早期。

共抑制分子是一类表达于免疫细胞表面的共信号分子,传递负性调控信号,能够抑制免疫细胞功能,其过度表达与脓毒症免疫抑制状态密切相关^[16]。程序性细胞死亡因子-1(programmed cell death protein 1, PD-1; 又名 CD279)及其配体(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1; 又名 CD274)属于 B7-CD28 免疫球蛋白超家族成员,主要表达在活化的淋巴细胞、单核细胞等免疫细胞表面,二者属于共抑制分子,发挥负性免疫调节作用。有研究表明,外周血免疫细胞 PD-1/PD-L1 表达水平与机体免疫功能抑制程度密切相关,使用 PD-1/PD-L1 阻断剂可明显改善免疫细胞功能^[17]。还有实验研究证实,脓毒症小鼠单核/巨噬细胞表面 PD-1/PD-L1 表达增加可引起吞噬功能下降,抗炎细胞因子分泌减少以及抑炎细胞因子分泌增加;PD-1 基因敲除可以明显降低脓毒症小鼠死亡率,同时伴随着细菌感染发生率降低和抑炎细胞因子分泌减少^[18]。临床研究也证实,脓毒症患者 PD-1 及其配体 PD-L1 在各白细胞亚群表面表达显著升高,与患者病死率升高、院内感染发生和免疫功能障碍呈明显正相关^[19]。提示 PD-1 在脓毒症时显著升高,与病死率呈正相关。本研究也显示,发生脓毒症的创伤患者伤后早期外周血 CD279 阳性率显著高于未发生脓毒症患者,且与患者损伤严重程度相关;此外我们也发现,中性粒细胞和淋巴细胞 CD279 阳性率呈不同程度增高。说明 PD-1 不仅能作为脓症患者发生和预后的预测指标,也可能成为创伤患者预后不良的早期预警指标。

综上所述,CD64 指数及中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞 CD279 表达水平与创伤患者损伤严重程度及预后相关,可能成为其早期预警指标。但由于本研究创伤患者样本量偏少,需要进一步加大样本量,采取多中心联合的方式对上述指标在评估创伤患者病情严重程度及预后的临床价值方面进行进一步的研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10219): 200–211. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32989-7.

[2] Hesselink L, Spijkerman R, van Wessem KJP, et al. Neutrophil heterogeneity and its role in infectious complications after severe trauma [J]. *World J Emerg Surg*, 2019, 14: 24. DOI: 10.1186/s13017-019-0244-3.

[3] 重庆市急救医疗中心. 简明损伤定级标准 2005 [M]. 重庆:

重庆出版社, 2005.

Chongqing Emergency Medical Center. The abbreviated injury scale 2005 [M]. Chongqing: Chongqing Press, 2005.

[4] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.

[5] Chen N, Zhang C, Hu S. Strengthening trauma care in China [J]. *BMJ*, 2017, 359: j5545. DOI: 10.1136/bmj.j5545.

[6] 苏玲敏, 张茂. ICU 中创伤死亡相关问题的研究现状 [J]. *创伤外科杂志*, 2013, 15 (4): 375–378. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2013.04.037.

Su LM, Zhang M. Current opinion on risk factors related to the mortality of trauma patients in ICU [J]. *J Trauma Surg*, 2013, 15 (4): 375–378. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2013.04.037.

[7] 胡彩珍, 叶立刚, 徐善祥. T 细胞亚群监测在基于 Sepsis-3 的创伤性脓症患者中的应用 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28 (2): 181–184. DOI: 10.3760/ema.j.issn.1671-0282.2019.02.010.

Hu CZ, Ye LG, Xu SX. The value of T cell subset monitoring for traumatic sepsis patients defined by sepsis-3 [J]. *Chin J Emerg Med*, 2019, 28 (2): 181–184. DOI: 10.3760/ema.j.issn.1671-0282.2019.02.010.

[8] 吴健锋. 脓毒症免疫抑制的监测和治疗进展 [J]. *中山大学学报 (医学科学版)*, 2020, 41 (1): 30–36. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2020.0006.

Wu JF. Advance in the monitoring and treatment of sepsis-induced immunosuppression [J]. *J Sun Yat-Sen Univ (Med Sci)*, 2020, 41 (1): 30–36. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2020.0006.

[9] 李蕊, 常亮, 李金洁, 等. CD64 在危重疾病合并感染诊断中的应用进展 [J]. *临床检验杂志*, 2019, 37 (7): 531–534. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2019.07.13.

Li R, Chang L, Li JJ, et al. Progress in the application of CD64 in the diagnosis of severe diseases complicated with infection [J]. *Chin J Clin Lab Sci*, 2019, 37 (7): 531–534. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2019.07.13.

[10] Rogina P, Stubljarić D, Lejko-Zupanc T, et al. Expression of CD64 on neutrophils (CD64 index): diagnostic accuracy of CD64 index to predict sepsis in critically ill patients [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2015, 53: e89–91. DOI: 10.1515/cclm-2014-0814.

[11] Yin WP, Li JB, Zheng XF, et al. Effect of neutrophil CD64 for diagnosing sepsis in emergency department [J]. *World J Emerg Med*, 2020, 11 (2): 79–86. DOI: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2020.02.003.

[12] Wang X, Li ZY, Zeng L, et al. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for sepsis in adult patients: a meta-analysis [J]. *Crit Care*, 2015, 19 (1): 245. DOI: 10.1186/s13054-015-0972-z.

[13] Groselj-Grenc M, Ihan A, Pavcnik-Arnol M, et al. Neutrophil and monocyte CD64 indexes, lipopolysaccharide-binding protein, procalcitonin and C-reactive protein in sepsis of critically ill neonates and children [J]. *Intensive Care Med*, 2009, 35 (11): 1950–1958. DOI: 10.1007/s00134-009-1637-7.

[14] Yang AP, Liu J, Yue LH, et al. Neutrophil CD64 combined with PCT, CRP and WBC improves the sensitivity for the early diagnosis of neonatal sepsis [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2016, 54 (2): 345–351. DOI: 10.1515/cclm-2015-0277.

[15] Yeh CF, Wu CC, Liu SH, et al. Comparison of the accuracy of neutrophil CD64, procalcitonin, and C-reactive protein for sepsis identification: a systematic review and meta-analysis [J]. *Ann Intensive Care*, 2019, 9 (1): 5. DOI: 10.1186/s13613-018-0479-2.

[16] 高经华, 刘喆滢, 刘志锋. 共抑制分子在脓毒症免疫功能障碍中作用的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32 (1): 121–125. DOI: 10.3760/ema.j.cn121430-20190916-00023.

Gao JH, Liu ZY, Liu ZF. Study progress of role of co-suppressor molecules in sepsis immune dysfunction [J]. *Chin Crit Care Med*, 2020, 32 (1): 121–125. DOI: 10.3760/ema.j.cn121430-20190916-00023.

[17] 徐畅, 李莉, 严静. 程序性死亡受体-1 信号通路在脓毒症中作用的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31 (9): 1160–1162. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2019.09.021.

Xu C, Li L, Yan J. Progress in programmed death-1 signaling pathway in sepsis [J]. *Chin Crit Care Med*, 2019, 31 (9): 1160–1162. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2019.09.021.

[18] Huang X, Venet F, Wang YL, et al. PD-1 expression by macrophages plays a pathologic role in altering microbial clearance and the innate inflammatory response to sepsis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106 (15): 6303–6308. DOI: 10.1073/pnas.0809422106.

[19] Zhao Y, Jia Y, Li C, et al. Predictive value of soluble programmed death-1 for severe sepsis and septic shock during the first week in an intensive care unit [J]. *Shock*, 2019, 51 (3): 289–297. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001171.

(收稿日期: 2020-09-02)